

饲喂频率对哺乳仔猪生长性能和骨骼肌蛋白质合成的影响

刘静波^{1,2} 曹山川¹ 杨勇¹ 张宏福²

(1.西南科技大学生命科学与工程学院,绵阳 621010;2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193)

摘要: 本试验旨在比较饲喂频率对哺乳仔猪生长性能、胴体组成和骨骼肌蛋白质合成相关基因表达的影响。试验选用来自于4头母猪的16头4日龄的“杜×长×大”仔猪,按体重和性别配对成8对,每对仔猪随机分配到每天饲喂6次组(M6组)和每天饲喂12次组(M12组),每组8头猪,每个配对内仔猪采食量保持一致,人工乳饲喂21 d。结果表明:1)与M12组相比,M6组仔猪的末重,第2周、第3周和全期的平均日增重显著提高($P<0.05$),第2周、第3周和全期的料重比显著降低($P<0.05$)。2)与M12组相比,M6组仔猪胴体瘦肉率、背最长肌重和半腱肌重显著提高($P<0.05$)。3)与M12组相比,M6组仔猪背最长肌胰岛素样生长因子1(IGF1)基因表达量有提高的趋势($P=0.05$);与M12组相比,仔猪背最长肌胰岛素样生长因子1受体(IGF1R)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、真核细胞翻译起始因子4E(EIF4E)和核糖体蛋白S6(RPS6)的mRNA表达量显著提高($P<0.05$),ⅡB型活化素受体(ACVR2B)和Ⅰ型活化素受体样激酶5(ALK5)的mRNA表达量显著降低($P<0.05$);与M12组相比,M6组仔猪背最长肌肌肉生长抑素(MSTN)mRNA表达量没有显著变化($P>0.05$)。综上所述,在本试验条件下,降低饲喂频率可促进胴体瘦肉沉积和骨骼肌生长,主要通过上调IGF1-IGF1R-mTOR通路下调MSTN受体表达来实现。

关键词: 饲喂频率;生长性能;骨骼肌;蛋白质合成;仔猪

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2019)07-3049-09

随着高产母猪的选育和母猪营养技术的改善,虽然增加了母猪的产活仔数,但也增加了每窝低初生重仔猪的数量^[1]。由于每头母猪带仔数量有限,因此以人工乳饲喂作为母乳饲喂的替代饲养体系的需要也在日益增加^[2]。目前评定人工乳对哺乳仔猪影响的研究所采用的饲喂模式差异较大且饲喂效果也存在一定差异。一部分研究采用大于或等于每天12次以上的饲喂频次^[2-3],其他研究采用每天6次左右的饲喂频次^[4-5]。研究表明,间断饲喂(每天饲喂6次)与连续饲喂(每分钟每千克体重进食167 μ L)相比能显著提高哺乳仔

猪生长性能和瘦肉沉积^[6-7]。本课题组前期的研究发现,降低饲喂频率能显著改善生育肥猪生长性能并提高骨骼肌蛋白质合成相关蛋白的表达^[8]。骨骼肌作为机体最大的组织,其生长和蛋白质沉积能力决定着哺乳仔猪的生长性能^[9]。前人研究发现,短期间断饲喂相对连续饲喂能显著提高新生仔猪骨骼肌和内脏器官的蛋白质合成能力^[10]。但目前关于饲喂频率是否影响哺乳仔猪生长性能和骨骼肌蛋白质合成尚不清楚,有待研究。

骨骼肌蛋白质沉积主要受到正向和反向的级联信号调控。正向信号为胰岛素和胰岛素样生长

收稿日期:2019-01-02

基金项目:四川省科技计划资助(2018JY0225);四川省教育厅资助科研项目(17ZA0413)

作者简介:刘静波(1985—),男,四川德阳人,副研究员,博士,主要从事单胃动物营养和分子营养研究。E-mail: liuswust@163.com

因子1(IGF1)信号通路,通过结合相应的受体[胰岛素受体(INSR)或胰岛素样生长因子1受体(IGF1R)],激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)^[11]。反向信号为肌肉生长抑制素,通过结合相应受体产生一系列级联信号抑制肌肉生长和蛋白质沉积^[12]。胰岛素和IGF1激活mTOR后,可磷酸化其下游靶蛋白,真核起始因子和核糖体蛋白S6(RPS6),进而启动翻译和蛋白质合成^[13]。基于此,推测饲喂频率可能通过调控蛋白质合成信号进而影响哺乳仔猪生长性能和骨骼肌生长。因此,本研究旨在通过比较饲喂6次和饲喂12次仔猪骨骼肌蛋白质沉积及其相关基因表达差异,揭示饲喂频率对哺乳仔猪骨骼肌生长的影响及分子机制,为人工乳饲喂哺乳仔猪制定合理饲喂模式提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物与试验设计

试验所用仔猪从4头体况接近、胎次相近和产期一致的“长×大”二元母猪所产“杜×长×大”新生仔猪中选取。每头母猪选取体重接近的2头新

生公猪和2头新生母猪,待采食初乳36h后断奶,随后用人工乳以奶瓶饲喂的方式进行采食训练36h。于4日龄时,16头仔猪按体重和性别配对成8对,每对仔猪随机分配到每天饲喂6次组(M6组)和每天饲喂12次组(M12组),每组8头猪。M6组仔猪于4日龄开始试验,M12组仔猪于5日龄开始试验。试验期为21d。

1.2 试验饲料与饲养管理

饲料为人工乳,由代乳粉加水配制而成,按照代乳粉:水=1:4的比例加40℃温开水,充分溶解混匀。代乳粉参照前人研究结果^[14]进行配制,饲料组成及营养水平见表1。所有仔猪单笼饲养于代谢笼中。试验前对圈舍及代谢笼进行冲洗、干燥和全面消毒。试验全期温度控制在28~32℃,相对湿度控制在60%左右。每天饲喂时间在06:00—24:00,M6组仔猪每3.0h饲喂1次,M12组仔猪每1.5h饲喂1次。M6组仔猪全期自由采食,并记录每天采食量,记录干物质采食量。M6组仔猪前1天的采食量等分为12份于第2天饲喂M12组配对仔猪。试验期间未对仔猪使用任何抗生素类药物。

表1 饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the diet (DM basis)

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels ³⁾	含量 Content
全脂奶粉 Whole milk powder	58.00	消化能 DE/(MJ/kg)	17.95
乳清浓缩蛋白 Whey protein concentrate	25.00	粗蛋白质 CP	27.26
酪蛋白 Casein	5.70	钙 Ca	0.87
椰子油 Coconut oil	10.00	有效磷 AP	0.61
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.10	总赖氨酸 Total Lys	2.06
氯化胆碱 Chloride choline	0.10	总蛋氨酸 Total Met	0.88
维生素预混料 Vitamin premix ¹⁾	0.10	总胱氨酸 Total Cys	0.25
矿物质预混料 Mineral premix ²⁾	0.50	总苏氨酸 Total Thr	1.46
精氨酸 Arg	0.06	总色氨酸 Total Trp	0.60
DL-蛋氨酸 DL-Met (98.5%)	0.06	总亮氨酸 Total Leu	2.69
L-赖氨酸 L-Lys (78.0%)	0.30	总异亮氨酸 Total Ile	1.39
L-苏氨酸 L-Thr (98.5%)	0.03	总缬氨酸 Total Val	1.54
L-色氨酸 L-Trp (98.0%)	0.05	总精氨酸 Total Arg	0.88
合计 Total	100.00		

¹⁾ 维生素预混料为每千克饲料提供 The vitamin premix provided the following per kg of the diet: VA 0.95 mg, VD₃ 0.02 mg, VE 28 mg, VK₃ 2 mg, VB₂ 1 mg, VB₆ 3 mg, VB₁₂ 48 μg, D-泛酸 D-pantothenic acid 30 mg, 叶酸 folic acid 2.0 mg, 生物素 biotin 1 mg。

²⁾ 矿物质预混料为每千克饲料提供 The mineral premix provided the following per kg of the diet: Fe 100 mg, Cu 6 mg, Mn 4 mg, Zn 100 mg, I 0.14 mg, Se 0.3 mg。

³⁾ 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.3 样品采集与处理

于各组的试验第 8 天、第 15 天和第 22 天清晨,对仔猪进行称重,记录每周末重。

1.3.1 血液样品采集

于各组试验的第 22 天清晨称重结束后,对仔猪进行前腔静脉采血,并将血液转入含肝素钠的真空采血管中缓慢混匀,3 500 r/min 离心 10 min 制备血浆,吸取上清液于 0.5 mL EP 管中,置于 -20 °C 保存待测。

1.3.2 肌肉分离、胴体分割和肌肉样品采集

血液样品采集结束后,对仔猪进行麻醉屠宰,打开腹腔,移除所有内脏,并迅速剥离左侧和右侧胴体第 1 胸椎至最后胸椎间的背最长肌以及臀部的半腱肌,剔除肌肉表面异物并进行称重。待肌肉称重后,采集右侧胴体最后胸椎的背最长肌装于冻存管中,经液氮速冻后,于 -80 °C 冰箱保存待测。右侧胴体参照 Rehfeldt 等^[15]方法分成腰段、颈段和腿部,在 4 °C 下放置 36 h 后进一步分离成瘦肉、脂肪、骨和皮,并进行称重。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 生长性能

根据各组仔猪初始体重、干物质采食量和每周末重计算每周和全期的平均日增重(ADG)和料重比(F/G)。

1.4.2 肌肉重量和胴体组成

使用电子秤对左侧和右侧胴体的背最长肌和半腱肌称重,并计算 2 种肌肉的总重。将右半侧胴体分为腰段、颈段和腿部,进一步分离为骨骼、皮肤、肌肉和脂肪 4 种组织。参照农业行业标准 NY/T 325—2004 计算瘦肉率与肥肉率,并稍作调整。公式如下:

$$\text{瘦肉率}(\%) = \frac{\text{瘦肉重}(\text{kg}) + \text{右侧背最长肌重}(\text{kg}) + \text{右侧半腱肌重}(\text{kg})}{\text{瘦肉重}(\text{kg}) + \text{脂肪重}(\text{kg}) + \text{骨重}(\text{kg}) + \text{皮重}(\text{kg}) + \text{右侧背最长肌重}(\text{kg}) + \text{右侧半腱肌重}(\text{kg})} \times 100;$$

$$\text{肥肉率}(\%) = \frac{\text{脂肪重}(\text{kg})}{\text{瘦肉重}(\text{kg}) + \text{脂肪重}(\text{kg}) + \text{骨重}(\text{kg}) + \text{皮重}(\text{kg}) + \text{右侧背最长肌重}(\text{kg}) + \text{右侧半腱肌重}(\text{kg})} \times 100。$$

1.4.3 血浆胰岛素和 IGF1 含量

采用北京诚林生物科技有限公司的酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测定血浆胰岛素和 IGF1 含量,测定步骤按照说明书操作进行。

1.4.4 背最长肌蛋白质合成基因 mRNA 表达量测定

总 RNA 提取采用 Bio-Rad Aurum Total RNA Fatty and Fibrous Tissue Kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, 美国)进行提取。RNA 纯度和浓度使用 NanoDrop ND-1000 (Nanodrop Technologies, Thermo Scientific, Wilmington, DE, 美国)测定。采用 ImProm-II cDNA synthesis kit (Promega, Madison, WI, 美国)进行 cDNA 合成。

实时荧光定量 PCR 测定背最长肌蛋白质合成相关基因,包括: *INSR*、*IGF1*、*IGF1R*、*mTOR*、*RPS6*、真核细胞翻译起始因子 4E (*EIF4E*)、核心蛋白聚糖 (*DCN*)、卵泡抑素 (*FST*)、肌肉生长抑素 (*MSTN*)、II B 型活化素受体 (*ACVR2B*) 和 I 型活化素受体样激酶 5 (*ALK5*)。荧光定量 PCR 反应体系为 10 μL: 2 μL cDNA, 2 μL 无 RNA 酶水, 上、下游引物各 0.5 μL (5 μmol/L) 和 5 μL 2×KAPA SYBR FAST qPCR Kit Master Mix。反应条件为: 预变性 95 °C 3 min, 40 个循环变性/退火/延伸 (95 °C 20 s, 60 °C 40 s) 和熔解曲线过程 (70 °C 至 90 °C, 每 5 s 上升 0.5 °C)。以 TATA 盒结合蛋白 (*TBP*)、拓扑异构酶 II β (*TOP2B*) 和肌动蛋白 (*ACTB*) 作为内参基因,并用 qBase 软件中的 geNorm 计算内参基因的平均表达稳定值 (M), 确保内参基因选择的正确性,同时计算每个样本的校正参数 (normalization factor), 用来计算目的基因的 mRNA 相对表达量。基因引物序列见表 2。

1.5 数据统计分析

以猪只为试验单元 ($n=8$) 对数据进行统计分析,数据表示为平均值±标准差 (mean±SD)。所有数据采用 SAS 9.0 软件进行正态性检验,符合正态分布的数据采用配对 *t* 检验进行显著性分析,非正态分布的数据采用 wilcoxon 两样本秩和检验进行显著性分析。以 $P<0.05$ 视为差异显著, $0.05 \leq P < 0.10$ 视为有趋势。

2 结果

2.1 试验全期采食量及饲喂频率对哺乳仔猪生长性能的影响

如图 1 所示,试验第 1 天到第 7 天,采食量随日龄的变化较小且组内变异小;试验第 7 天以后,采食量随日龄的增加而增加且组内变异变大。本试验采用配对设计,2 组的采食量相同。

表 2 基因引物序列
Table 2 Primer sequences of genes

基因 Genes	引物序列 Primers sequences (5'—3')	登录号 Accession No.
胰岛素受体 <i>INSR</i>	F:GAAAGGGGGCAAGGGTCTAC R:CTCGGGTGCTTTGTTCTCCT	XM_005654749.1
胰岛素样生长因子 1 <i>IGF1</i>	F:GAAAGGGGGCAAGGGTCTAC R:CTCGGGTGCTTTGTTCTCCT	NM_214256.1
胰岛素样生长因子 1 受体 <i>IGF1R</i>	F:CATACCAGGGCTTGTCCAAC R:ATCAGCTCAAACAGCATGTCC	NM_214172.1
哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 <i>mTOR</i>	F:GGGGTTTGGATCAGGGTCTG R:GACTCATCCGCCCTACATG	XM_003127584.4
核糖体蛋白 S6 <i>RPS6</i>	F:CACATAGGCTCAATACCATC R:TGGAACTCTTAGGCACATCA	XM_005660083.1
真核细胞翻译起始因子 4E <i>EIF4E</i>	F:ATGGAAGTCACTGTGGCCTG R:TCGTCCACTAGCTCACAGA	DQ826509.1
核心蛋白聚糖 <i>DCN</i>	F:ATCTCAGCTTTGAGGGCTCC R:TGTCCAGACCCAAATCAGAACAT	NM_213920.1
卵泡抑素 <i>FST</i>	F:CCCATGTAAAGAAACGTGCGA R:TGCGGTAGGTTTCCCATCC	NM_001003662.1
肌肉生长抑素 <i>MSTN</i>	F:CCAGAGAGATGACAGCAGTGA R:TTCCTTCCAATTGCATTAGAAGAT	NM_214435.2
II B 型活化素受体 <i>ACVR2B</i>	F:GCATCGCAAGCCTCCCTAT R:CTGTAGCAGGTTCTCGTGCTTC	NM_001005350.1
I 型活化素受体样激酶 5 <i>ALK5</i>	F:GGCAGAGCTGTGAAGCCTTA R:TGATGCCTTCTGCTGACTG	NM_001038639.1
肌动蛋白 <i>ACTB</i>	F:TCTGGCACCACACCTTCT R:TGATCTGGGTCATCTTCTCAC	XM_003124280.3
拓扑异构酶 II β <i>TOP2B</i>	F:AACTGGATGATGCTAATGATGCT R:TGGAAAACTCCGTATCTGTCTC	NM_001258386.1
TATA 盒结合蛋白 <i>TBP</i>	F:GATGGACGTTCCGGTTTAGG R:AGCAGCACAGTACGAGCAA	DQ178129

如图 2 所示,饲喂频率对试验第 1 周和第 2 周时仔猪的体重没有显著影响 ($P>0.05$); 试验第 3 周时, M6 组仔猪体重显著高于 M12 组 ($P<0.05$)。

如表 3 所示,饲喂频率对仔猪第 1 周 ADG 和 F/G 均没有显著影响 ($P>0.05$); 与 M12 组相比, M6 组仔猪第 2 周、第 3 周和试验全期的 ADG 显著提高且 F/G 显著降低 ($P<0.05$)。

2.2 饲喂频率对哺乳仔猪胴体组成、肌肉重量和血浆激素含量的影响

如表 4 所示,与 M12 组相比, M6 组仔猪胴体瘦肉率显著提高 ($P<0.05$); 饲喂频率对仔猪胴体肥肉率没有显著影响 ($P>0.05$)。增加饲喂频率显

著降低了背最长肌和半腱肌的重量 ($P<0.05$)。饲喂频率对仔猪血浆胰岛素和 IGF1 含量没有显著影响 ($P>0.05$)。

2.3 饲喂频率对哺乳仔猪背最长肌蛋白质合成基因表达的影响

如表 5 所示,饲喂频率对仔猪背最长肌 *INSR*、*DCN*、*FST* 和 *MSTN* mRNA 表达量没有显著影响 ($P>0.05$)。与 M12 组相比, M6 组仔猪背最长肌 *IGF1* mRNA 表达量有提高的趋势 ($P=0.05$); M6 组仔猪背最长肌 *IGF1R*、*mTOR*、*RPS6*、*EIF4E* mRNA 表达量显著提高, 而 *ACVR2B* 和 *ALK5* mRNA 表达量显著降低 ($P<0.05$)。

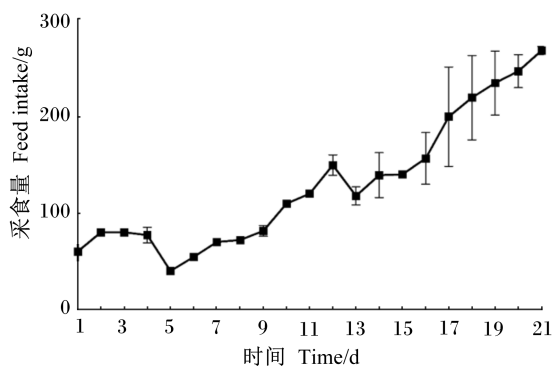


图1 试验期采食量

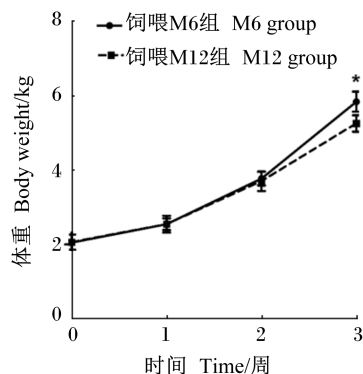
Fig.1 Feed intake over test period

3 讨论

3.1 饲喂频率对哺乳仔猪生长性能的影响

在早产婴儿和低初生重婴儿上的研究指出, 间隔饲喂相较于连续性饲喂可促进婴儿的生长^[16-17]。猪上的研究表明, 整个哺乳期间隔饲喂相较于连续性饲喂可显著提高试验第9天后的体重, 提高全期日增重并降低料重比^[6]。本研究结

果表明, 与 M12 组相比, M6 组可显著提高末重和全期 ADG 并降低 F/G, 本研究结果与前人研究结果基本一致, 说明降低饲喂频率可改善哺乳仔猪全期生长性能。



* : 组间差异显著 ($P < 0.05$)。

* : significant difference between groups ($P < 0.05$).

图2 饲喂频率对试验期哺乳仔猪体重的影响

Fig.2 Effects of meal frequency on body weight of suckling piglets over test period

表3 饲喂频率对哺乳仔猪平均日增重和料重比的影响

Table 3 Effects of meal frequency on average daily gain and feed to gain ratio of suckling piglets

项目 Items	饲喂 6 次组 M6 group	饲喂 12 次组 M12 group	P 值 P-value
平均日增重 ADG/(g/d)			
第 1 周 Week 1	72.20±15.95	69.39±9.89	0.68
第 2 周 Week 2	175.51±6.45 ^a	165.31±7.07 ^b	<0.05
第 3 周 Week 3	295.92±33.03 ^a	222.45±42.42 ^b	<0.05
全期 Whole trial	181.21±14.14 ^a	152.38±11.31 ^b	<0.05
料重比 F/G			
第 1 周 Week 1	0.96±0.26	0.96±0.13	0.56
第 2 周 Week 2	0.64±0.02 ^b	0.68±0.04 ^a	<0.05
第 3 周 Week 3	0.71±0.06 ^b	0.97±0.18 ^a	<0.05
全期 Whole trial	0.72±0.03 ^b	0.85±0.06 ^a	<0.05

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

3.2 饲喂频率对哺乳仔猪胴体组成、肌肉重量和血浆激素含量的影响

前人研究发现, 与连续饲喂相比, 短期间隔饲喂可促进哺乳仔猪骨骼肌蛋白沉积^[18]。Gaziano^[19]发现, 采食-禁食循环可促进猪骨骼肌蛋白质的合成。前人采用双 X 射线扫描手段比较间隔饲喂与连续饲喂仔猪体成分的差异发现, 间隔饲

喂可显著提高机体瘦肉率, 对肥肉率没有显著影响。此外, 间隔饲喂可显著提高仔猪背最长肌、比目鱼肌和腓肠肌的重量^[6]。本研究发现, 与 M12 组相比, M6 组胴体瘦肉率、背最长肌重量和半腱肌重量显著提高, 本研究结果与前人研究结果一致, 说明降低饲喂频率可促进哺乳仔猪骨骼肌的生长。本课题组前期研究发现, 降低饲喂频率降

低了胴体重以及骨骼肌中与蛋白质和氨基酸代谢相关蛋白的表达^[18]。育肥猪上的研究,降低饲喂频率显著降低了采食量,而本研究采用配对设计,组间采食量一致,采食量的异同可能是本研究与前期研究结果不一致的原因。间隔饲喂可导致餐后出现高峰值的血浆胰岛素含量,当胰岛素含量超过一定阈值后可刺激蛋白质的合成^[6]。Newman等^[20]发现,餐后高含量胰岛素引起的蛋白质合成是较低饲喂频率组骨骼肌重量和胴体瘦肉率增加的主要原因。本研究结果表明,饲喂频率对哺乳仔猪血浆胰岛素和IGF1含量无显著影响,与前期研究结果不一致。生理状态下,胰岛素呈脉

冲样式分泌,在餐后2~3 h可恢复到基础水平^[6],而本研究血浆采集于所有仔猪禁食大于5 h之后,故而不同饲喂频率组仔猪血浆胰岛素含量没有差异。此外,前人采用连续饲喂可抑制餐后的胰岛素分泌,间隔饲喂与其相比可极大的增加餐后胰岛素分泌^[6];而本试验中12次饲喂与6次饲喂对餐后胰岛素分泌的影响可能一致,但有待进一步研究。血液中的IGF1主要来源于肝脏,受生长激素的调控^[21]。研究发现骨骼肌蛋白质沉积和生长主要受肌肉本身分泌的IGF1而不是循环血中的IGF1调控^[22]。因此,本试验中较低饲喂频率可能促进骨骼肌本身IGF1的分泌。

表4 饲喂频率对哺乳仔猪胴体组成、肌肉重量和血浆激素含量的影响

Table 4 Effects of meal frequency on carcass composition, muscle weight and plasma hormones contents of sucking piglets

项目 Items	饲喂 6 次组 M6 group	饲喂 12 次组 M12 group	P 值 P-value
胴体组成 Carcass composition/%			
瘦肉率 Lean meat percentage	64.17±1.19 ^a	61.02±1.33 ^b	<0.05
肥肉率 Fat meat percentage	12.62±1.33	12.79±0.97	0.78
肌肉重量 Muscle weight/g			
背最长肌 <i>Longissimus</i> muscle	118.39±6.47 ^a	97.75±6.89 ^b	<0.05
半腱肌 <i>Semitendinosus</i> muscle	43.85±2.65 ^a	32.95±1.75 ^b	<0.05
血浆激素 Plasma hormones			
胰岛素 Insulin/(μ IU/mL)	54.66±3.31	54.69±2.57	0.98
胰岛素样生长因子 1 IGF1/(ng/mL)	14.55±1.48	13.81±1.05	0.27

表5 饲喂频率对哺乳仔猪背最长肌蛋白质合成基因 mRNA 表达量的影响

Table 5 Effects of meal frequency on mRNA expression of genes related to protein synthesis in *longissimus* muscle of sucking piglets

项目 Items	饲喂 6 次组 M6 group	饲喂 12 次组 M12 group	P 值 P-value
胰岛素受体 <i>INSR</i>	1.00±0.53	0.92±0.21	0.69
胰岛素样生长因子 1 <i>IGF1</i>	1.00±0.66	0.54±0.20	0.05
胰岛素样生长因子 1 受体 <i>IGF1R</i>	1.00±0.38 ^a	0.45±0.21 ^b	<0.05
哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 <i>mTOR</i>	1.00±0.27 ^a	0.39±0.19 ^b	<0.05
核糖体蛋白 S6 <i>RPS6</i>	1.00±0.26 ^a	0.59±0.14 ^b	<0.05
真核细胞翻译起始因子 4E <i>EIF4E</i>	1.00±0.80 ^a	0.28±0.13 ^b	<0.05
核心蛋白聚糖 <i>DCN</i>	1.00±0.52	0.86±0.28	0.52
卵泡抑素 <i>FST</i>	1.00±0.30	0.91±0.30	0.53
肌肉生长抑素 <i>MSTN</i>	1.00±0.43	0.92±0.76	0.32
II B 型活化素受体 <i>ACVR2B</i>	1.00±0.34 ^a	0.43±0.21 ^b	<0.05
I 型活化素受体样激酶 5 <i>ALK5</i>	1.00±0.37 ^a	0.41±0.23 ^b	<0.05

3.3 饲喂频率对哺乳仔猪背最长肌蛋白质合成基因表达的影响

为了验证饲喂频率是否促进骨骼肌本身 IGF1 的分泌, 本研究检测了背最长肌中 IGF1 的 mRNA 表达量, 发现降低饲喂频率有提高背最长肌 IGF1 mRNA 表达量的趋势。此外, 本研究发现, 饲喂频率对背最长肌 INSR mRNA 表达量没有显著影响。胰岛素与 INSR 结合, 激发一系列级联信号促进蛋白质合成^[11]。研究表明, 间隔饲喂与连续饲喂相比显著提高了猪背最长肌 INSR 和磷酸化 INSR 的表达^[6]。本研究结果与前人研究结果不一致, 说明饲喂频率调控骨骼肌蛋白质沉积可能不通过胰岛素-INSR 途径, 但有待进一步研究证实。IGF1 与 IGF1R 结合, 进而激活 mTOR, mTOR 激活后可磷酸化 EIF4E 和 RPS6, 进而启动翻译和蛋白质的合成^[13]。本研究发现, 与 M12 组相比, M6 组背最长肌 IGF1R、mTOR、EIF4E 和 RPS6 的 mRNA 表达显著提高, 说明降低饲喂频率可能通过激活 IGF1-IGF1R-mTOR 通路促进骨骼肌蛋白质合成。蛋白质合成除了受 INS 和 IGF1 通路的促进外, 还受到 MSTN 的抑制^[12]。本研究结果表明, 饲喂频率对背最长肌 MSTN mRNA 表达量没有显著影响。前人研究指出, MSTN 的活性受 FST 和 DCN 的调控, FST 和 DCN 可抑制 MSTN 的 mRNA 表达^[12]。本研究结果发现, 饲喂频率对背最长肌 FST 和 DCN 的 mRNA 表达量没有显著影响。MSTN 通过与其受体 ACVR2B 和 ALK5 结合, 进而磷酸化母亲 DPP 同源物 2 或母亲 DPP 同源物 3 (SMAD2/3), 启动对骨骼肌蛋白质合成的抑制作用^[12-23]。本研究发现, 与饲喂 12 次相比, 饲喂 6 次显著降低了背最长肌 ACVR2B 和 ALK5 的 mRNA 表达量, 说明降低饲喂频率可能减少了 MSTN 和其受体的结合, 进而削弱了 MSTN 对骨骼肌生长和蛋白质沉积的抑制作用。因此, 降低饲喂频率可能通过上调 IGF1-IGF1R-mTOR 通路并减少 MSTN 与受体结合促进猪骨骼肌蛋白质合成。

4 结 论

① 与饲喂 12 次相比, 饲喂 6 次可提高哺乳仔猪生长性能、胴体瘦肉率和骨骼肌重量。

② 降低饲喂频率可能通过上调 IGF1 通路和下调 MSTN 受体表达促进骨骼肌生长和机体蛋白

质沉积。

参考文献:

- [1] FOXCROFT G R. Reproduction in farm animals in an era of rapid genetic change: will genetic change outpace our knowledge of physiology [J]. *Reproduction in Domestic Animals*, 2012, 47 (Suppl.4): 313-319.
- [2] ZETZSCHE A, PIEPER R, ZENTEK J. Influence of formula versus sow milk feeding on trace element status and expression of zinc-related genes in the jejunum, liver and pancreas of neonatal piglets [J]. *Archives of Animal Nutrition*, 2015, 69 (5): 366-377.
- [3] SCHMITT O, O' DRISCOLL K, BOYLE L A, et al. Artificial rearing affects piglets pre-weaning behaviour, welfare and growth performance [J]. *Applied Animal Behaviour Science*, 2019, 210: 16-25.
- [4] HU L, HAN F, CHEN L, et al. High nutrient intake during the early postnatal period accelerates skeletal muscle fiber growth and maturity in intrauterine growth-restricted pigs [J]. *Genes & Nutrition*, 2018, 13: 23.
- [5] CHE L, XUAN Y, HU L, et al. Effect of postnatal nutrition restriction on the oxidative status of neonates with intrauterine growth restriction in a pig model [J]. *Neonatology*, 2015, 107 (2): 93-99.
- [6] EL-KADI S W, BOUTRY C, SURYAWAN A, et al. Intermittent bolus feeding promotes greater lean growth than continuous feeding in a neonatal piglet model [J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2018, 108 (4): 830-841.
- [7] DAVIS T A, FIOROTTO M L, SURYAWAN A. Bolus vs. continuous feeding to optimize anabolism in neonates [J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2015, 18 (1): 102-108.
- [8] LIU J B, CAI X, XIONG H, et al. Effects of feeding frequency on meat quality traits and *Longissimus muscle* proteome in finishing pigs [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101 (6): 1175-1184.
- [9] CHEN Y, MCCAULEY S R, JOHNSON S E, et al. Downregulated translation initiation signaling predisposes low-birth-weight neonatal pigs to slower rates of muscle protein synthesis [J]. *Frontiers in Physiology*, 2017, 8: 482.
- [10] EL-KADI S W, GAZZANEO M C, SURYAWAN A, et al. Viscera and muscle protein synthesis in neonatal pigs is increased more by intermittent bolus than by

- continuous feeding [J]. *Pediatric Research*, 2013, 74 (2): 154-162.
- [11] MA X M, BLENIS J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2009, 10 (5): 307-318.
- [12] HAN H Q, MITCH W E. Targeting the myostatin signaling pathway to treat muscle wasting diseases [J]. *Current Opinion in Supportive and Palliative Care*, 2011, 5 (4): 334-341.
- [13] LAPLANTE M, SABATINI D M. mTOR signaling in growth control and disease [J]. *Cell*, 2012, 149 (2): 274-293.
- [14] HE Q H, REN P P, KONG X F, et al. Intrauterine growth restriction alters the metabolome of the serum and jejunum in piglets [J]. *Molecular Biosystems*, 2011, 7 (7): 2147-2155.
- [15] REHFELDT C, STABENOW B, PFUHL R, et al. Effects of limited and excess protein intakes of pregnant gilts on carcass quality and cellular properties of skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue in fattening pigs' [J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90 (1): 184-196.
- [16] AKINTORIN S M, KAMAT M, PILDES R S, et al. A prospective randomized trial of feeding methods in very low birth weight infants [J]. *Pediatrics*, 1997, 100 (4): E4.
- [17] SCHANLER R J, SHULMAN R J, LAU C, et al. Feeding strategies for premature infants: randomized trial of gastrointestinal priming and tube-feeding method [J]. *Pediatrics*, 1999, 103 (2): 434-439.
- [18] EL-KADI S W, SURYAWAN A, GAZZANE M C, et al. Anabolic signaling and protein deposition are enhanced by intermittent compared with continuous feeding in skeletal muscle of neonates [J]. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism*, 2012, 302 (6): E674-E686.
- [19] GAZZANE M. Differential regulation of protein synthesis and mTOR signaling in skeletal muscle and visceral tissues of neonatal pigs after a meal [J]. *Pediatric Research*, 2011, 70 (3): 253-260.
- [20] NEWMAN R E, DOWNING J A, THOMSON P C, et al. Insulin secretion, body composition and pig performance are altered by feeding pattern [J]. *Animal Production Science*, 2014, 54 (3): 319-328.
- [21] PUCHE J E, CASTILLA-CORTÁZAR I. Human conditions of insulin-like growth factor- I (IGF- I) deficiency [J]. *Journal of Translational Medicine*, 2012, 10: 224.
- [22] YAKAR S, LIU J L, STANNARD B, et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96 (13): 7324-7329.
- [23] ELLIOTT B, RENSHAW D, GETTING S, et al. The central role of myostatin in skeletal muscle and whole body homeostasis [J]. *Acta Physiologica*, 2012, 205 (3): 324-340.

Effects of Meal Frequency on Growth Performance and Muscle Protein Synthesis in Suckling Piglets

LIU Jingbo^{1,2} CAO Shanchuan¹ YANG Yong¹ ZHANG Hongfu²

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China;

2. State Key Laboratory of Animal Nutrition, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: The present study was conducted to determine the effects of meal frequency on growth performance, carcass composition and muscular protein synthesis-related genes expression in suckling piglets. Sixteen piglets of a crossbred genotype [Duroc×(Landrace×Large White)] were obtained from 4 litters in 4 successive replicates and grouped into 8 pairs according to sex and body weight. At 4 days of age, piglets within each pair were offered the same amount of feed allowance either in 6 (M6 group, $n=8$) or 12 (M12 group, $n=8$) meals per day during a 3-week interventional period. The results showed as follows: 1) compared with M12 group, the final body weight and average daily body weight at week 2, week 3 and during the whole trial in M6 group significantly increased ($P<0.05$), and the feed/gain at week 2, week 3 and during the whole trial significantly decreased ($P<0.05$). 2) Compared with M12 group, the carcass lean percentage and weight of *longissimus* muscle and *semitendinosus* muscle in M6 group significantly increased ($P<0.05$). 3) Compared with M12 group, the mRNA expression of insulin-like growth factor 1 (*IGF1R*) in M6 group had an increasing trend ($P=0.05$); compared with M12 group, the mRNA expression of insulin-like growth factor 1 receptor (*IGF1R*), mammalian target of rapamycin (*mTOR*), eukaryotic cells translate initiation factor 4E (*EIF4E*) and ribosomal protein S6 (*RPS6*) in M6 group significantly increased ($P<0.05$), and the mRNA expression of II type B activated receptor (*ACVR2B*) and type I activated kinase receptor (*ALK5*) in M6 group significantly decreased ($P<0.05$); compared with M12 group, the mRNA expression of myostatin (*MSTN*) in M6 group had no significant change ($P>0.05$). Collectively, reduced meal frequency results in accelerated carcass lean deposition and muscle hypotrophy, which may be mediated by activated IGF1-IGF1R-mTOR pathway and down-regulated expression of MSTN receptors. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(7): 3049-3057]

Key words: meal frequency; growth performance; skeletal muscle; protein synthesis; piglets